

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3773148号

(P3773148)

(45) 発行日 平成18年5月10日(2006.5.10)

(24) 登録日 平成18年2月24日(2006.2.24)

(51) Int.Cl.

F 1

A 61 K 31/7078 (2006.01)	A 61 K 31/7076
A 61 P 9/00 (2006.01)	A 61 P 9/00
A 01 N 1/02 (2006.01)	A 01 N 1/02
C 07 H 19/167 (2006.01)	C 07 H 19/167

請求項の数 8 (全 17 頁)

(21) 出願番号	特願平9-311563
(22) 出願日	平成9年10月29日(1997.10.29)
(55) 公開番号	特開平11-130792
(43) 公開日	平成11年5月18日(1999.5.18)
審査請求日	平成13年10月15日(2001.10.15)

(73) 特許権者	000004477 キッコーマン株式会社 千葉県野田市野田250番地
(74) 代理人	100125542 弁理士 緋木 英之
(72) 発明者	片岡 茂博 千葉県野田市野田339番地 キッコーマン株式会社内
(72) 発明者	間中 達雄 千葉県野田市野田339番地 キッコーマン株式会社内
(72) 発明者	葛西 浩一 千葉県野田市野田339番地 キッコーマン株式会社内

最終頁に続く

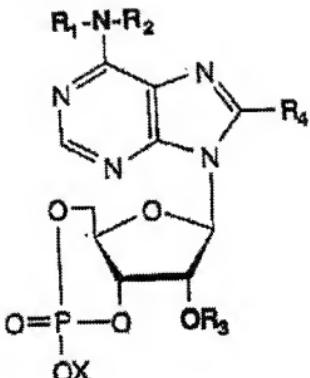
(54) 【発明の名称】虚血性疾患予防、治療剤及び医器保存剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記の一般式

【化1】



(式中のR₁は、水素原子、炭素数1ないし6のアルキル基、アルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基、又はフルフリル基を、R₂は、水素原子、炭素数が1ないし6のアルキル基、またはアルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基を、R₃は、水素原子、炭素数1ないし6のアルキル基、又はアルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基を、R₄は、水素原子、アミノ基、低級アルキルアミノ基、低級アルキルチオ基、アラルキルチオ基、又はハロゲン原子を意味し、R₁、R₂、R₃が共に水素原子のとき、R₄がハロゲン原子となることはなく、またR₁、R₂、R₃、R₄が共に同時に水素原子となることはなく、また、Xは、水素原子、アルカリ金属、アンモニア、アミン類を意味する)で表されるアデノシン-3'、5'ー環状リン酸誘導体の少なくとも一種を有効成分として含有することを特徴とする、虚血ー再灌流障害の予防剤或いは治療剤。

【請求項2】

アデノシン-3'、5'ー環状リン酸誘導体がN⁶-アルキル誘導体であり、式中においてR₁が、炭素数1ないし6のアルキル基、アルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基(フェニル基は、低級アルキル基、水酸基、ハロゲン原子、若しくはアミノ基を有したフェニル基であってもよい)、又はフルフリル基であり、R₂、R₃、R₄が共に水素原子である、請求項1記載の虚血ー再灌流障害の予防剤或いは治療剤。

【請求項3】

アデノシン-3'、5'ー環状リン酸誘導体がN⁶、N⁶-ジアルキル誘導体であり、式中においてR₁、R₂が、共に炭素数1ないし6のアルキル基、又はアルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基(フェニル基は、低級アルキル基、水酸基、ハロゲン原子、若しくはアミノ基を有したフェニル基であってもよい)であり、R₁とR₂は同じであってもよく、また互いに異なっていてもよく、R₃、R₄が共に水素原子である、請求項1記載の虚血ー再灌流障害の予防剤或いは治療剤。

【請求項4】

アデノシン-3'、5'ー環状リン酸誘導体がN⁶、N⁶、2'ーOートリアルキル誘導体であり、式中においてR₁、R₂、R₃が同一で、同時に炭素数1ないし6のアルキル基、又はアルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基(フェニル基は、低級アルキル基、水酸基、ハロゲン原子、若しくはアミノ基を有したフェニル基であってもよい)であり、R₄が水素原子である、請求項1記載の虚血ー再灌流障害の予防剤或いは治療剤。

【請求項5】

アデノシン-3'、5'ー環状リン酸誘導体がN⁶、2'ーOージアルキル誘導体であり

10

20

30

40

50

、式中において R_1 、 R_2 が同一で、炭素数 1 ないし 6 のアルキル基であり、 R_3 、 R_4 が共に水素原子である、請求項 1 記載の虚血一再灌流障害の予防剤或いは治療剤。

【請求項 6】

アデノシン-3'、5' - 環状リン酸誘導体が 8-アミノ又は 8-アルキルアミノ誘導体であり、式中において R_1 、 R_2 、 R_3 が、共に水素原子であり、 R_4 がアミノ基又は低級アルキルアミノ基である、請求項 1 記載の虚血一再灌流障害の予防剤或いは治療剤。

【請求項 7】

アデノシン-3'、5' - 環状リン酸誘導体が N^6 -アルキル-8-置換誘導体であり、式中において R_1 が、炭素数 1 ないし 6 のアルキル基又はベンジル基であり、 R_2 、 R_3 が共に水素原子であり、 R_4 が低級アルキルアミノ基、低級アルキルチオ基、アラルキルチオ基、又はハロゲン原子である、請求項 1 記載の虚血一再灌流障害の予防剤或いは治療剤。

【請求項 8】

請求項 1 ～ 7 記載のいずれかのアデノシン-3'、5' - 環状リン酸誘導体の少なくとも一種を有効成分として含有することを特徴とする、臓器保存剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、虚血性疾患の予防又は治療剤、および臓器保存剤に関するものである。特に、アデノシン-3'、5' - 環状リン酸 (以下、cAMP という) 誘導体を有効成分とする、虚血性疾患予防、治療剤、及び臓器保存剤に関するものである。

10

【0002】

【従来の技術】

近年、活性酸素が生体に対して種々の影響を及ぼしていることが分かってきた。即ち、薬物、金属、虚血一再灌流、ストレスなどの引き金によって生成した活性酸素が、脂質、蛋白質、糖、DNAなどを攻撃して、様々な病態の形成や増悪を引き起こしている。

20

最近、虚血性疾患にも活性酸素が関与していることがわかってきており、その病態や疾患として虚血性脳疾患（脳梗塞、脳浮腫など）、虚血性心疾患（心筋梗塞、不整脈、狭心症など）、ショック、あるいは肺酸素中毒、臓器移植障害など多くのものがあげられる。脳梗塞の場合、血栓溶解剤を用いて血液を洗れるようにすると、脳出血や脳浮腫などの虚血一再灌流障害が起こることが知られており、これを抑える良い薬は市販されていない。

30

【0003】

これらの病態に対して、D. J. Hearse らによる、アロブリノールなどのキサンチニン酸化酵素阻害剤を用いる試み (Acta Physiol. Scand., Suppl. 548巻、65頁、1986年参照)、S. R. Jolly らによる、スパーーオキサイドジスマターゼ (SOD) を用いる方法 (Circ. Res., 54巻、227頁、1984年参照)、ラジカルスカベンジャーを用いる方法 (特開平9-67327号参照)、アデノシンやその関連化合物を用いる試み (特開平4-124143号および特許公報2505085号参照) がなされているが、半減期の短さ又は効果が不十分であったり、副作用の問題がある。また、臓器移植においても免疫抑制剤の登場に伴う拒絶反応の克服とともに、虚血一再灌流障害の克服が移植後の課題となっている。そして臓器を取り出してから移植までの時間が長いほど虚血状態が長く続くことになり、移植後の臓器障害の度合いも大きくなる。近年この観点から、臓器保存剤として、酸化還元能を有するペブチドの使用 (特開平5-139992号)、あるいは活性酸素抑制組成物の使用 (特開平8-26902号参照) などが提案されている。

40

【0004】

また、 N^6 -2'-オージブチリル cAMP などの cAMP 誘導体が脳機能改善剤として有効との提案 (国際公開番号 WO 90/11080 参照) があるが、この脳機能改善剤は、脳梗塞などの虚血性疾患の直接 (急性期) の予防、治療のためのものではない。つまり、前記の cAMP 誘導体は、梗塞による心臓や脳の虚血一再灌流障害からの保護では

50

なく、パーキンソン病による神経症候障害、中枢神経の変成、アルツハイマー病による痴呆症などの脳機能、神経症候障害の改善を試みるものである。また前記提案には、脳梗塞に代表される脳虚血、又は脳出血による脳障害という記述がなされているが、これは上記と同様に、脳梗塞の結果生じた後遺症である脳神経障害の治療に有効であることを示しており、そして前記の cAMP 誘導体が、前記疾患に通常使用されるイデベノンやホバテン酸カルシウム、ドバミンなどの薬剤に代わるものであるとされている。すなわち、cAMP およびその誘導体が、虚血一再灌流障害などの急性期の虚血性疾患そのものに有効という報告はない。そして、本発明に用いられる多くの化合物は、特開昭60-239496号、特開平3-83995号などに記載の公知の化合物であり、そのうちの幾つかは、強心作用を有すること（特開昭63-208525号参照）が知られているが、急性期の虚血疾患に対する効果を有することは知られていない。また、臓器保存剤については、N⁶-2'-O-ジブチリルcAMP や 8-ブロモcAMP がその成分の一つとして有用であるとの報告（Circulation, 88巻, Part 2, 291頁, 1993年参照）があるが、後述する本発明に用いられる化合物がそのような効果を有することは知られていない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、虚血一再灌流障害により生ずる急性期の疾患、例えば虚血性脳疾患、虚血性心疾患、臓器移植障害などの予防、治療剤、および肺、肝臓、腎臓、心臓などの臓器移植のために摘出された臓器を保存するのに有効な臓器保存剤を提供することを目的としてなされたものである。

【0006】

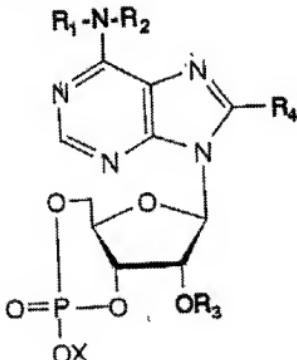
【課題を解決するための手段】

本発明者は、前記課題を達成するために鋭意研究を進めた結果、特定の cAMP 誘導体が急性期の虚血性疾患の予防、治療剤として、また臓器保護剤として有効であることを見出し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、下記の一般式

【0007】

【化2】



【0008】

（式中の R₁ は、水素原子、炭素数 1 ないし 6 のアルキル基、アルキル基の炭素数が 1 ないし 3 であるアラルキル基、又はフルフリル基を、R₂ は、水素原子、炭素数が 1 ないし 6 のアルキル基、またはアルキル基の炭素数が 1 ないし 3 であるアラルキル基を、R₃ は

10

20

30

40

50

、水素原子、炭素数1ないし6のアルキル基、又はアルキル基の炭素数が1ないしは3であるアラルキル基を、R₁は、水素原子、アミノ基、低級アルキルアミノ基、低級アルキルチオ基、アラルキルチオ基、又はハロゲン原子を意味し、R₂、R₃が共に水素原子のとき、R₄がハロゲン原子となることはなく、またR₁、R₂、R₃、R₄が共に同時に水素原子となることはない。また、Xは、水素原子、アルカリ金属、アンモニア、アミン類を意味する)

で表されるアデノシン-3'、5'一環状リン酸誘導体の少なくとも一種を有効成分として含有することを特徴とする、虚血性疾患予防、治療剤であり、また、前記のアデノシン-3'、5'一環状リン酸誘導体の少なくとも一種を有効成分として含有することを特徴とする、臓器保存剤である。

以下、本発明について詳細に説明する。

【0009】

【発明の実施の形態】

本発明の虚血性疾患予防、治療剤および臓器保存剤に用いられる化合物は、前記一般式で表せるcAMP誘導体であって、式中のR₁は、水素原子、炭素数1ないし6のアルキル基、アルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基、又はフルフリル基を示す。R₁において、炭素数1ないし6のアルキル基としては直鎖状または分岐鎖状のアルキル基であり、例えばメチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、イソブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、ヘキシル基が挙げられ、炭素数が6を超えるときは、本発明の目的を十分に達成することができない（後述のR₂、R₃におけるアルキル基も同様）。また、アルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基としては、例えばベンジル基、メチルベンジル基、ハイドロキシベンジル基、アミノベンジル基、クロロベンジル基、プロモベンジル基、フルオロベンジル基、フェネチル基、フェニルプロピル基などが挙げられる。アルキル基の炭素数が3を超えるときは、本発明の目的を十分に達成することができない（後述のR₂、R₃においても同様）。

【0010】

また、前記一般式中のR₂は、水素原子、炭素数1ないし6のアルキル基、またはアルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基を示す。そして、R₂における炭素数1ないし6のアルキル基としては、例えば前記したR₁と同様のアルキル基が挙げられ、またアルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基としては、例えば前記したR₁と同様のアラルキル基が挙げられる。

【0011】

また、前記一般式中のR₃は、水素原子、炭素数1ないし6のアルキル基、又はアルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基を示し、炭素数1ないし6のアルキル基としては、具体的には前記したR₁、R₂と同様のアルキル基が、また、アルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基としては、前記したR₁、R₂と同様のアラルキル基が挙げられる。

【0012】

また、前記一般式中のR₄は、水素原子、アミノ基、低級アルキルアミノ基、低級アルキルチオ基、アラルキルチオ基、又はハロゲン原子を示す。アルキル基が低級アルキル基である前記のアルキルアミノ基としては、例えばメチルアミノ基、ジメチルアミノ基、エチルアミノ基、ジエチルアミノ基、プロピルアミノ基、ジプロピルアミノ基、ブチルアミノ基、ジブチルアミノ基などが挙げられる。また、低級アルキルチオ基としては、例えばメチルチオ基、エチルチオ基、プロピルチオ基、ブチルチオ基などが、またアラルキルチオ基としては、ベンジルチオ基、ハイドロキシベンジルチオ基などが挙げられる。

そして、R₁、R₂、R₃、R₄が共に同時に水素原子となることはない。

【0013】

また、一般式中のXは、水素原子、又はナトリウム、カリウムなどのアルカリ金属、アンモニア、又はトリエチルアミンなどのアミン類を示す。

【0014】

10

20

30

40

50

次いで、本発明に用いられる好適なcAMP誘導体の具体例を挙げる。

先ず、一般式中においてR₁が、炭素数1ないし6のアルキル基、アルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基、又はフルフリル基であり、R₂、R₃、R₄が共に水素原子であるcAMP誘導体としては、例えばN⁶-エチルcAMP、N⁶-ブロビルcAMP、N⁶-ブチルcAMP、N⁶-イソブチルcAMP、N⁶-ベンチルcAMP、N⁶-ヘキシルcAMP、N⁶-ベンジルcAMP、N⁶-フルフリルcAMP、N⁶-クロロベンジルcAMP、N⁶-ハイドロキシベンジルcAMP、N⁶-フェネチルcAMP、N⁶-フェニルプロビルcAMPなどのN⁶-アルキルcAMPが挙げられる。

【0015】

また、一般式中において、R₁、R₂が、共に炭素数1ないし6のアルキル基、又はアルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基であり、R₃、R₄が共に水素原子であるcAMP誘導体としては、例えばN⁶、N⁶-ジメチルcAMP、N⁶、N⁶-ジエチルcAMP、N⁶、N⁶-ジブロビルcAMP、N⁶、N⁶-ジブチルcAMP、N⁶、N⁶-ジベンチルcAMP、N⁶、N⁶-ジヘキシルcAMP、N⁶、N⁶-ジベンジルcAMP、N⁶、N⁶-ジクロロベンジルcAMP、N⁶、N⁶-ハイドロキシベンジルcAMP、N⁶、N⁶-ジフェネチルcAMP、N⁶、N⁶-ジフェニルプロビルcAMPなどのN⁶、N⁶-ジアルキルcAMPが挙げられる。

【0016】

また、一般式中において、R₁、R₂、R₃が同一で、同時に炭素数1ないし6のアルキル基、又はアルキル基の炭素数が1ないし3であるアラルキル基であり、R₄が水素原子であるcAMP誘導体としては、例えばN⁶、N⁶、2'-O-トエチルcAMP、N⁶、N⁶、2'-O-トリブロビルcAMP、N⁶、N⁶、2'-O-トリブチルcAMP、N⁶、N⁶、2'-O-トリベンチルcAMP、N⁶、N⁶、2'-O-トリヘキシルcAMP、N⁶、N⁶、2'-O-トリベンジルcAMP、N⁶、N⁶、2'-O-トリフェネチルcAMP、N⁶、N⁶、2'-O-トリフェニルプロビルcAMPなどのN⁶、N⁶、2'-O-トリアルキルcAMPが挙げられる。

【0017】

また、一般式中において、R₁、R₃が同一で、炭素数1ないし6のアルキル基であり、R₂、R₄が共に水素原子であるcAMP誘導体としては、例えばN⁶、2'-O-ジメチルcAMP、N⁶、2'-O-ジエチルcAMP、N⁶、2'-O-ジブチルcAMP、N⁶、2'-O-ジイソブチルcAMP、N⁶、2'-O-ジベンチルcAMP、N⁶、2'-O-ジヘキシルcAMPなどのN⁶、2'-O-ジアルキルcAMPが挙げられる。

【0018】

また、一般式中において、R₁、R₂、R₃が、共に水素原子であり、R₄がアミノ基又は低級アルキルアミノ基であるcAMP誘導体としては、例えば8-アミノcAMP、8-メチルアミノcAMP、8-ジメチルアミノcAMP、8-エチルアミノcAMP、8-ジエチルアミノcAMP、8-ブロビルアミノcAMP、8-ジブロビルアミノcAMP、8-ブチルアミノcAMPなどの8-アミノcAMP又は8-アルキルアミノcAMPが挙げられる。

【0019】

また、一般式中において、R₁が、炭素数1ないし6のアルキル基又はベンジル基であり、R₂、R₃が共に水素原子であり、R₄が低級アルキルアミノ基、低級アルキルチオ基、アラルキルチオ基、又はハロゲン原子であるcAMP誘導体としては、例えばN⁶-ブチル-8-ベンジルチオcAMP、N⁶-ベンチル-8-ブロモcAMP、N⁶-ブロビル-8-ベンジルチオcAMP、N⁶-ヘキシル-8-クロロcAMP、N⁶-ブチル-8-エチルチオcAMP、N⁶-エチル-8-ブロビルアミノcAMPなどのN⁶-アルキル-8-置換cAMPが挙げられる。

【0020】

前記したこれらcAMP誘導体は、虚血性浮腫に対して強い抑制作用を有するので、虚血

10

20

30

40

50

による疾患（虚血性脳疾患、虚血性心疾患、虚血一再灌流障害、臓器移植時の障害）の予防、治療剤として、あるいは臓器移植の際の虚血状態にある臓器の保存剤としても有効に用いられる。

【0021】

本発明に用いられるcAMP誘導体（以下、本cAMP誘導体ということがある）の1種又は2種以上を含有させて脳梗塞、脳浮腫、心筋梗塞、不整脈、狭心症などの虚血性疾患予防、治療剤として投与する場合、内服薬あるいは注射薬として用いるのが好ましい。内服薬として用いる場合は、錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤などとして、経口投与してもよいし、また直腸投与のために座剤の形でも投与できる。経口投与の場合は、本cAMP誘導体に、薬理学的に許容される添加物、すなわち賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、保存剤などを加えることが出来る。また非経口投与の場合には、例えば注射剤の形で使用され、注射剤としては無菌の水性または非水性の溶液剤、懸濁剤、乳濁剤などが含まれる。更に、必要に応じて防腐剤、乳化剤、分散剤、安定化剤、溶解補助剤等を添加しても良い。またこれを通常の無菌化処理した後、凍結乾燥などにより個体組成物として、使用直前に滅菌液体を加えて使用することもできる。

本発明の虚血性疾患予防、治療剤を投与する場合は、症状の程度、年齢、体重により異なるが、経口投与の場合、一般に成人一日当たり本cAMP誘導体を0.01～400mg/kg、好ましくは0.5～100mg/kgを1～数回に分けて、また非経口投与の場合には0.001～100mg/kg、好ましくは0.01～50mg/kgを1～数回に分けて投与するのが好ましい。

【0022】

また、本cAMP誘導体の1種または2種以上を有効成分として含有させて臓器移植時の臓器保存剤として使用する場合は、これを液体に溶解するか、又はその凍結乾燥などにより個体組成物とし、使用直前に滅菌液体を加えて使用する。この保存剤を保存液の形態で用いる場合には、例えば生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、クエン酸緩衝など生理的に許容される緩衝液や等張化液などに、本cAMP誘導体を溶解して調製することが出来る。

また好ましくは、従来より移植用臓器の保存液として用いられているユーロコリンズ（Euro-collins）液やユニバーシティ オブ ウィスコンシン（UW）液などに、本cAMP誘導体の必要量を添加して調製することが出来る。

臓器保存剤として使用する場合は、本cAMP誘導体を0.01～100mM好ましくは0.1～30mMとするのがよい。

【0023】

これらcAMP誘導体を得るには、その製造方法は特に限定されず、どの様な方法でもよく、例えばN⁶-アルキルcAMP誘導体は、特開昭60-239496号に記載の方法に従い、cAMPと対応するアルデヒドと還元剤を用いる還元アルキル化反応により、また、N⁶、N⁶-ジアルキルcAMP誘導体は、特開平3-83995号に記載の方法に従い、2'-O-トシリルcAMPをNaH存在下、ハロゲン化アルキルで処理した後、アルカリ水溶液中で脱保護することにより得られる。また、N⁶、N⁶、2'-O-トリアルキルcAMP誘導体は、特公平7-64868号に記載の方法に従い、cAMPをNaH存在下、ハロゲン化アルキルと反応させることにより、また、N⁶、2'-O-ジアルキルcAMPは特公告7-116213号に記載の方法に従い、cAMPをナトリウムメトキサイド存在下、ハロゲン化アルキルと反応させることにより得られる。また8-置換cAMP誘導体は、Muneyamaらの方法（Biotechnology, 10巻, 2390頁、1971年参照）により、さらにもまた、N⁶-アルキル-8-置換cAMP誘導体は、Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 36巻、2212頁、1988年、に記載の方法を用いるか又は応用し、8置換cAMPと対応するアルデヒドと還元剤を用いる還元アルキル化反応により得ることが出来る。

【0024】

【実施例】

10

20

30

40

50

以下に、参考例、実験例、実施例を挙げてさらに詳細に説明するが、本発明は、これらの一例によって限定されるものではない。

参考例1 (N⁶-プロピルcAMPの製造)

cAMPのトリプチルアミン塩5.0gを酢酸100mlに溶解し、プロピオニルアルデヒド5.8mlを添加し、50℃に加熱下で攪拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム2.5gを含んだジメチルホルムアミド6mlを加え、5時間攪拌した。反応混合物に少量の水を加え、溶媒を減圧留去したのち、残査を少量の水に溶解し、塩酸でpH2に調整し、活性炭カラムに吸着させ、水洗後、メタノール／水／2%水酸化アンモニウム（容量比10:10:1）で溶出する区分を減圧乾固した。残査をprep. TLC（メタノール／クロロホルム；容量比3.5:6.5）で精製した。得られた無色固体に水-メタノール、2N-NaOHを添加して溶解し、2N塩酸でpH2に調整して目的の化合物N⁶-プロピルcAMP 2.4gを得た。

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 267 (17600)

元素分析値: C₁₃H₁₈N₅O₆P・3/4H₂Oとして

	C	H	N
実測値 (%)	40.64	5.00	18.09
計算値 (%)	40.58	5.11	18.20

【0025】

参考例2 (N⁶-ブチルcAMPの製造)

cAMPのトリプチルアミン塩5.0gを酢酸100mlに溶解し、ブチルアルデヒド8.7mlを添加し、50℃に加熱下、攪拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム2.5gを含んだジメチルホルムアミド6mlを加え、6時間攪拌した。次いで、参考例1に示したと同様の後処理をして、無色粉状の目的の化合物N⁶-ブチルcAMP 2.8gを得た。

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 267 (17100)

元素分析値: C₁₄H₂₀N₅O₆P・2/3H₂Oとして

	C	H	N
実測値 (%)	42.26	5.22	17.61
計算値 (%)	42.32	5.41	17.63

【0026】

参考例3 (N⁶-イソブチルcAMPの製造)

cAMPのトリプチルアミン塩5.0gを酢酸100mlに溶解し、イソブチルアルデヒド7.1mlを添加し、50℃に加熱下で攪拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム2.5gを含んだジメチルホルムアミド6mlを加え、5時間攪拌した。参考例1に示したと同様の後処理をして、目的の化合物N⁶-イソブチルcAMP 1.6gを得た。

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 267 (17600)

元素分析値: C₁₄H₂₀N₅O₆P・2/3H₂Oとして

	C	H	N
実測値 (%)	42.15	5.20	17.50
計算値 (%)	42.32	5.41	17.63

【0027】

10

20

30

40

50

参考例4 (N⁶-ベンチルcAMPの製造)

cAMPのトリプチルアミン塩5.0gを酢酸100mlに溶解し、バレルアルデヒド10.6mlを添加し、50℃に加熱下で攪拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム3.1gを含んだジメチルホルムアミド6mlを加え、8時間攪拌した。次いで参考例1に示したと同様の後処理をして、目的の化合物N⁶-ベンチルcAMP 1.8gを得た。

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 267 (16700)

元素分析値: C₁₅H₂₂N₅O₆P・3/2H₂Oとして

	C	H	N
実測値 (%)	42.01	5.66	16.23
計算値 (%)	42.26	5.91	16.43

10

【0028】

参考例5 (N⁶-ヘキシルcAMPの製造)

cAMPのトリプチルアミン塩5.0gを酢酸100mlに溶解し、カブロアルデヒド12mlを添加し、50℃に加熱下で攪拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム2.5gを含んだジメチルホルムアミド6mlを加え、6時間攪拌した。次いで参考例1に示したと同様の後処理をして、N⁶-ヘキシルcAMP 2.6gを得た（なお、後述の動物試験には、0.2N NaOHで中和して得たN⁶-ヘキシルcAMPのNa塩を使用した）。

20

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 267 (17700)

元素分析値: C₁₆H₂₄N₅O₆P・2/3H₂Oとして

	C	H	N
実測値 (%)	45.08	5.84	16.31
計算値 (%)	45.18	6.00	16.46

30

【0029】

参考例6 (N⁶-ベンジルcAMPの製造)

cAMPのトリプチルアミン塩5.0gを酢酸100mlに溶解し、ヘプチルアルデヒド10.2mlを添加し、50℃に加熱下で攪拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム3.1gを含んだジメチルホルムアミド6mlを加え、8時間攪拌した。次いで参考例1に示したと同様の後処理をして、無色粉状の目的の化合物N⁶-ベンジルcAMP 2.2gを得た。

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 268 (18600)

元素分析値: C₁₇H₂₈N₅O₆P・H₂Oとして

	C	H	N
実測値 (%)	46.50	4.66	15.84
計算値 (%)	46.72	4.58	16.03

40

【0030】

参考例7 (N⁶-フルフリルcAMPの製造)

cAMPのトリプチルアミン塩5.0gを酢酸100mlに溶解し、フルフラール8.4mlを添加し、50℃に加熱下で攪拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム2.5gを含んだジメチルホルムアミド6mlを加え、8時間攪拌した。次いで参考例1に示し

50

たと同様の後処理をして、無色粉状の目的の化合物 N^6 -フルフリル cAMP 2.3 g を得た。なお、元素分析には、Na 置を調製し、測定した。

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 266 (16500)

元素分析値: $C_{15}H_{16}N_5O_7PNa \cdot 3/2H_2O$ として

	C	H	N
実測値 (%)	39.27	3.67	14.96
計算値 (%)	39.31	3.95	15.28

10

【00311】

参考例 8 (N^6, N^6 -ジブチル cAMP の製造)

(1) 2'-O-トシリル cAMP の合成

cAMP (32.9 g) の水酸化ナトリウム (11 g) 水溶液 (200 ml) にトシリクロライド (8.6 g) のジオキサン (600 ml) 溶液を加え、室温下で一晩攪拌した。生成した沈殿をろ取り、ジオキサン洗浄し、乾燥して 2'-O-トシリル cAMP 3.9 g を得た。

UV: λ_{max} EtOH (ϵ) nm: 258 (14400)

元素分析値: $C_{17}H_{18}N_5O_6P \cdot 2/3H_2O$ として

	C	H	N
実測値 (%)	41.03	3.85	14.16
計算値 (%)	41.23	3.90	14.14

20

(2) N^6, N^6 -ジブチル cAMP の製造

前記のごとくして得た 2'-O-トシリル cAMP (2.0 g) のジメチルスルホキサイド (20 ml) 溶液に、水素化ナトリウム (660 mg)、ブチルプロマイド (1.8 ml) を添加し、室温下、2 日間攪拌した。反応液にメタノール/水 (60 ml: 60 ml)、2N 水酸化ナトリウム (14 ml) を加え、室温下で一日攪拌した。その後、濃塩酸で中和、溶媒留去後、残渣を水に溶解し、2N 塩酸で pH 2 に調整し、活性炭カラムに吸着させ、水で洗浄し、エタノール/水/2.8% 水酸化アンモニウム (容量比 10:10:1) で溶出する区分を減圧乾燥した。残査を少量のメタノールに溶解し、2N 塩酸で pH 2 に調整し、prep-TLC (メタノール/クロロホルム; 容量比 3:7) で精製し、目的とする N^6, N^6 -ジブチル cAMP 1.26 g を得た。

30

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 278 (19300)

元素分析値: $C_{18}H_{28}N_5O_6P \cdot 4/3H_2O$ として

	C	H	N
実測値 (%)	47.59	6.40	15.29
計算値 (%)	47.52	6.53	15.39

40

【0032】

参考例 9 (N^6, N^6 -ジベンチル cAMP の製造)

参考例 8 に示したと同様の方法でおこなった。すなわち、2'-O-トシリル cAMP (2.0 g) のジメチルスルホキサイド (20 ml) 溶液に水素化ナトリウム (660 mg)、ベンチルプロマイド (2.3 ml) を添加し、室温下で 2 日間反応させた。この反応液にメタノール/水 (30 ml: 70 ml)、2N 水酸化ナトリウム (14 ml) を加え、室温下で 3 日攪拌した。次いで参考例 8 の (2) と同様の後処理をして目的化合物の N^6

50

、N⁶-ジベンチルcAMPを0.934g得た。

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 279 (19800)

元素分析値: C₂₀H₃₂N₅O₆P · H₂Oとして

	C	H	N
実測値 (%)	49.63	6.82	14.35
計算値 (%)	49.73	7.05	14.50

【0033】

参考例10 (N⁶、N⁶-ジベンジルcAMPの製造)

参考例8に示したと同様の方法でおこなった。すなわち、2'-O-オートシルcAMP (2.0g) のジメチルスルホキサイド (20m1) 溶液に水素化ナトリウム (730mg) 、ベンジルプロマイド (2.6m1) を添加し、室温下で7時間反応させた。この反応液にメタノール／水 (30m1:70m1) 、2N水酸化ナトリウム (13m1) を加え、室温下で2日攪拌した。次いで参考例8-(2)と同様の後処理をして目的化合物のN⁶、N⁶-ジベンジルcAMPを0.773g得た。

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 277 (22100)

元素分析値: C₂₄H₂₄N₅O₆P · 3/2H₂Oとして

	C	H	N
実測値 (%)	53.53	4.82	12.71
計算値 (%)	53.73	5.07	13.05

【0034】

参考例11 (N⁶、N⁶、2'-O-トリエチルcAMPの製造)

cAMPトリプチルアミン塩 (2.1g) のジメチルスルホキサイド (20m1) 溶液に水素化ナトリウム (800mg) 、エチルプロマイド (2.1m1) を添加し、室温下で8時間攪拌した。反応液を2N塩酸でpH2に調整した後、溶液を減圧留去した。残留する油状物質にベンゼン (50m1) を加えて溶解し、水150m1/回で4回洗浄した。ベンゼン層を分取し、無水硫酸ナトリウム乾燥後、減圧乾固した。得られた残渣を少量のメタノールに溶解し、p r e p. TLC (メタノール/クロロホルム:容量比1:4) にて精製し、目的化合物のN⁶、N⁶、2'-O-トリエチルcAMPを0.96g得た。

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 277 (18700)

元素分析値: C₁₆H₂₄N₅O₆P · 1/2H₂Oとして

	C	H	N
実測値 (%)	45.48	5.86	16.51
計算値 (%)	45.50	5.96	16.58

なお、動物試験にはこの化合物を0.2N NaOHで中和してNa塩としたものを使用した。

【0035】

参考例12 (N⁶、N⁶、2'-O-トリプチルcAMPの製造)

cAMPトリプチルアミン塩 (2.1g) のジメチルスルホキサイド (20m1) 溶液に水素化ナトリウム (800mg) 、ブチルプロマイド (2.1m1) を添加し、室温下で1日間攪拌した。次いで参考例1-1と同様に後処理し、目的化合物のN⁶、N⁶、2'-O-トリプチルcAMPを0.94gを得た。

10

20

30

40

50

なお、動物試験にはこの化合物を0.2N NaOHで中和してNa塩としたもの使用した。

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 277 (18400)

元素分析値: $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{N}_5\text{O}_6\text{P} \cdot 2/3\text{H}_2\text{O}$ として

	C	H	N
実測値 (%)	52.21	7.19	13.42
計算値 (%)	51.86	7.38	13.74

10

【0036】

参考例13 (N^6 , $2'$ -O-ジブチルcAMPの製造)

cAMPトリブチルアミン塩(3.1g)のジメチルスルホキサイド(50ml)溶液に、2.8%リチウムメトキサイド(25.6ml)、ブチルプロマイド(10.3ml)を添加し、室温下で1日間攪拌した。この反応液を2N塩酸で中和した後、溶媒を減圧留去した。残査を少量の水に溶解し、2N塩酸でpH2に調整した後、活性炭カラムに吸着させ、水で洗浄後、エタノール/水/2.8%水酸化アンモニウム(容量比10:10:1)で溶出する区分を減圧乾固した。得られた残査を少量のメタノールに溶解し、2N塩酸でpH2に調整、prep. TLC(メタノール/クロロホルム;容量比3:7)にて精製し、目的化合物である N^6 , $2'$ -O-ジブチルcAMPを0.54gを得た。

20

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 267 (16400)

元素分析値: $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_5\text{O}_6\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ として

	C	H	N
実測値 (%)	46.85	6.24	14.94
計算値 (%)	47.06	6.58	15.24

【0037】

30

参考例14 (8-ジメチルアミノcAMPの製造)

Muneyamaらの方法(バイオケミストリー、10巻、2390頁、1971年参照)で合成した。すなわち、8-ブロモcAMP 3gのメタノール(20ml)溶液に、ジメチルアミン(18ml)を添加し、一晩加熱還流した。溶媒を留去した後、残査をシリカゲルカラム(30g)に添付し、クロロホルム-メタノール(容量比3:1)で洗浄後、メタノールで溶出し、目的化合物を含む区分を減圧乾固した。得られた残査を水より再結晶して目的の化合物8-ジメチルアミノcAMP 2.1gを得た。

UV: λ_{max} 0.1N NaOH nm: 273

λ_{max} 0.1N HCl nm: 278

40

【0038】

参考例15 (N^6 -ブチル-8-ベンジルチオcAMPの製造)

前記したMuneyamaらの方法で合成した8-ベンジルチオcAMPのトリブチルアミン塩3.2gを酢酸100mlに溶解し、ブチルアルデヒド3.4mlを添加し、室温下で攪拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム1.4gを含んだジメチルホルムアミド6mlを加え、4時間攪拌した。次いで参考例1と同様の後処理をして無色粉状の目的化合物の N^6 -ブチル-8-ベンジルチオcAMP 2.1gを得た。

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 292 (16300)元素分析値: $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_6\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$ として

	C	H	N
実測値 (%)	48.02	5.43	13.25
計算値 (%)	48.00	5.37	13.33

【0039】

参考例16 (N⁶-ベンチル-8-ブロモcAMPの製造)

8-ブロモcAMPのトリプチルアミン塩2.7gを酢酸100mlに溶解し、パレルアルデヒド8.5mlを添加し、室温下で攪拌した。次いでシアノ水素化ほう素ナトリウム1.8gを含んだジメチルホルムアミド6mlを加え、6時間攪拌した。参考例1と同様の後処理をして無色粉状の目的とする化合物のN⁶-ベンチル-8-ブロモcAMP 1.8gを得た。

UV: λ_{max} 0.1N NaOH (ϵ) nm: 269 (17100)元素分析値: $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_6\text{PBr} \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ として

	C	H	N
実測値 (%)	48.02	5.43	13.25
計算値 (%)	48.00	5.37	13.33

【0040】

実験例1 (急性毒性試験)

表1に示す各cAMP誘導体を生理食塩水に溶解し、5週齢のICR系マウス（雌5匹/群）に腹腔内投与してLD₅₀を求めた。その結果を表1に示す。

【0041】

【表1】

表1

10

20

30

40

化合物名	LD ₅₀ (mg/kg)
N ⁶ -ブロビルcAMP	400
N ⁶ -ブチルcAMP	350
N ⁶ -ベンジルcAMP	380
N ⁶ -フルフリルcAMP	480
N ⁶ , N ⁶ -ジブチルcAMP	400
N ⁶ -ブチル-8-ベンジルチオcAMP	350

なお、表1に示した各cAMP誘導体は、参考例1、2、6、7、8及び15に記載したと同様にして得たものである。

【0042】

実験例1 (虚血性浮腫に対する抑制試験)

7~8週齢のddy雄性マウスを用い、表2に示す各被検物質を虚血する30分前に投与した。なお、対照には生理食塩水を投与した。

浮腫抑制試験は、マウス右後足に輪ゴム（直径4.2mm）で縛り、虚血状態とした。20分後に輪ゴムを取り除き血流を再開させたときの浮腫の程度を調べることによって行なつ

50

た。浮腫の程度は、再灌流20分後に、OZAKI MFG. CO., LTD社製の「dial thickness gage G MICRO G-1M」を用いて、右足の厚さ(mm)を測定することで数値化した。

被検物質は、生理食塩水に溶解し、これを10mg/kg投与量で静脈内投与した。なお、生理食塩水に溶解しにくい化合物については腹腔内投与した。浮腫抑制率(%)は、A:被検物質投与における虚血前の足の厚さ(mm)、B:被検物質投与における再灌流後20分の足の厚さ(mm)、C:対照の虚血前の足の厚さ(mm)、D:対照の再灌流後20分の足の厚さ(mm)を測定し、測定したA、B、C、Dから、 $\{1 - (B - A) / (D - C)\} \times 100$ の計算によって求めた。

このようにして求めた各被検物質の浮腫抑制率(%)を表2に示す。

【0043】

10

表2

被検物質名	浮腫抑制率(%)
1 N ⁶ -プロピルcAMP	40
2 N ⁶ -ブチルcAMP	35
3 N ⁶ -イソブチルcAMP	50
4 N ⁶ -ベンチルcAMP	53
5 N ⁶ -ヘキシルcAMPNa	46
6 N ⁶ -ベンジルcAMP	58
7 N ⁶ -フルフリルcAMP	25
8 N ⁶ , N ⁶ -ジブチルcAMP	25
9 N ⁶ , N ⁶ -ジベンチルcAMP	30
10 N ⁶ , N ⁶ -ジベンジルcAMP	20
11 N ⁶ , N ⁶ , 2'-O-トリエチルcAMPNa	25
12 N ⁶ , N ⁶ , 2'-O-トリブチルcAMPNa	30
13 N ⁶ , 2'-O-ジブチルcAMP	36
14 8-ジメチルアミノcAMP	30
15 N ⁶ -ブチル-8-ベンジルチオcAMPNa	38
16 N ⁶ -ベンチル-8-ブロモcAMP	27
比較例1;cAMPNa	—
比較例2;N ⁶ , 2'-O-ジブチリルcAMPNa	5
比較例3;8-ブロモcAMP	5
比較例4;アデノシン	—

20

30

40

表中のーは、活性なしを表す。

なお、表2中のNo. 1~16に示す各cAMP誘導体は、それぞれ前記参考例1~16に記載したと同様の方法で得たものである。

【0044】

表2に示したように、本発明に用いられるcAMP誘導体は、いずれも虚血性浮腫に対して強い抑制作用を有することが確認された。一方cAMP, 8-ブロモcAMP、アシル誘導体であるN⁶, 2'-O-ジブチリルcAMP、さらにはcAMP類似化合物である

50

アデノシンなどには殆ど活性がないか、あっても非常に弱いものであり、本発明に用いられるcAMP誘導体が、虚血性浮腫に対し優れた抑制作用を有することがわかる。よって本発明化合物は、虚血による疾患（虚血性脳疾患、虚血性心疾患、虚血一再灌流障害など）の予防、治療として、そして臓器移植用の臓器が保存されている状態においては、その臓器はまさに虚血状態であるので、本cAMP誘導体は、臓器保存効果が知られているN⁶、2'、3'ジブチルcAMP、8-ブロモcAMPよりも優れた効果を示し、臓器保存剤としても有用である。

【0045】

実施例2（アンプル型の虚血性疾患予防、治療剤）

N⁶-ブチルcAMP 9gを注射用蒸留水300mlに溶解し、無菌ろ過した後、アンプルに3mlづつ充填し、アンプル型の非経口投与用の虚血性疾患予防、治療剤を調製した。なお、使用したN⁶-ブチルcAMPは、参考例2に記載したと同様の方法で得たものである。

10

【0046】

実施例3（アンプル型の虚血性疾患予防、治療剤）

N⁶-ベンジルcAMP 3gを、注射用蒸留水300mlに溶解し、無菌ろ過した後、アンプルに2mlづつ充填し、アンプル型の非経口投与用の虚血性疾患予防、治療剤を調製した。なお、使用したN⁶-ベンジルcAMPは、参考例6に記載したと同様の方法で得たものである。

20

【0047】

実施例4（カプセルタイプの虚血性疾患予防、治療剤）

組成成分：

N ⁶ -ベンチルcAMP	250g
パレイショ澱粉	150g
軽質無水ケイ酸	50g
ステアリン酸マグネシウム	10g
乳糖	540g

上記組成成分を均一に混合し、硬質カプセルに500mgづつ充填して経口投与用のカプセルタイプの虚血性疾患予防、治療剤を調製した。

30

なお、使用したN⁶-ベンチルcAMPは、参考例4に記載したと同様の方法で得たものである。

【0048】

実施例5（錠剤型の虚血性疾患予防、治療剤）

組成成分：

N ⁶ -ブチル-8-ベンジルチオcAMPNa	400g
パレイショ澱粉	150g
結晶セルロース	60g
軽質無水ケイ酸	50g
ヒドロキシプロピルセルロース	30g
ステアリン酸マグネシウム	15g
乳糖	295g

40

上記のN⁶-ブチル-8-ベンジルチオcAMPNa、乳糖、パレイショ澱粉、結晶セルロースおよび軽質無水ケイ酸を混合し、ヒドロキシプロピルセルロースの10%エタノール溶液を加えて練合、造粒して径0.8mmのスクリーンで押し出して顆粒を調製し、乾燥した後にステアリン酸マグネシウムを加えて圧縮成形し、500mgの錠剤型の虚血性疾患予防、治療剤を調製した。

なお、使用したN⁶-ブチル-8-ベンジルチオcAMPNaは、参考例15に記載したと同様の方法で得たものである。

【0049】

実施例6（臓器保存剤）

50

組成成分：

デキストラン	50 g／リットル
グルコン酸カリウム	9.5 mmol／リットル
K ₂ HPO ₄	2.5 mmol／リットル
MgSO ₄	5 mmol／リットル
グルコース	6.5 mmol／リットル
アデノシン	5 mmol／リットル
N-アセチルシスティン	0.5 mmol／リットル
N ⁶ -ベンジルcAMP	1 mmol／リットル

上記の成分を混合してpH 7～8に調製し、臓器保存用液を調製した。

10

なお、使用したN⁶-ベンジルcAMPは、参考例6に記載したと同様の方法で得たものである。

【0050】

実施例7（臓器保存剤）

組成成分：

ヒドロキシエチル澱粉	6.0 g／リットル
K ₂ HPO ₄	6.5 mmol／リットル
K ₂ HPO ₄	1.8 mmol／リットル
グルコン酸カリウム	8.6 mmol／リットル
グルコン酸ナトリウム	1.0 mmol／リットル
マンニトール	9.0 mmol／リットル
NaHCO ₃	1.0 mmol／リットル
N ⁶ -ベンジルcAMP	2 mmol／リットル

20

上記の成分を混合してpH 7～8に調製し、臓器保存用液を調製した。

なお、使用したN⁶-ベンジルcAMPは、参考例4に記載したと同様の方法で得たものである。

【0051】

【発明の効果】

本cAMP誘導体は、虚血一再灌流障害による浮腫を強く抑制する作用を有するので、これを有効成分として含有させた本発明の虚血性疾患予防、治療剤は、急性期の虚血性脳疾患、虚血性心疾患、臓器移植障害などの予防、治療剤として有効に用いられる。また、本発明の臓器保存剤は、虚血状態にある肺、肝臓、腎臓、心臓などの移植用摘出臓器を保存する際の臓器保存剤として有効に用いることができる。

30

フロントページの続き

審査官 滝野 留香

(56)参考文献 国際公開第90/011080 (WO, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/7076

A61P 9/00

A61P 43/00

C07H 19/167

CA(STN)

REGISTRY(STN)